Disco reactivo con panel lípido Plus Piccolo®

Servicio y asistencia técnica al cliente: 800-822-2947
Para solicitar el servicio de asistencia al cliente, los clientes residentes fuera de EE.UU. deben ponerse en contacto con su representante local de Abaxis

Aplicable solamente a los clientes de EE.UU.
Exoneración de la CLIA: Usar únicamente sangre entera tratada con heparina-litio
Complejidad moderada: Usar sangre entera anticoagulada con heparina-litio, plasma tratado con heparina litio o suero

Abril de 2014
PN: 400-7155, Rev.: N
© 2005, Abaxis, Inc., Union City, CA 94587

1. Indicaciones

El disco reactivo con panel lípido Plus Piccolo®, utilizado con el analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress™, está diseñado para ser usado en la determinación cuantitativa *in vitro* del colesterol total (CHOL), colesterol transportado por las lipoproteínas de alta densidad (HDL), triglicéridos (TRIG), alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) y glucosa (GLU) en sangre entera heparinizada, suero o plasma heparinizado en un ámbito de laboratorio clínico o una ubicación point-of-care. A partir de las determinaciones CHOL, HDL y TRIG, el analizador calcula el colesterol transportado por las lipoproteínas de baja densidad (LDL), el colesterol transportado por las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y la relación entre colesterol total y colesterol transportado por las lipoproteínas de alta densidad.

Solamente para clientes de EE.UU.

Según las normativas CLIA de 1988, no se requiere realizar las pruebas de este panel. Si un laboratorio modifica las instrucciones del sistema de análisis, entonces se considera que las pruebas son de alta complejidad y, por ende, estarán sujetas a todos los requisitos de CLIA. Para aquellos laboratorios para los cuales no se exige el cumplimiento con la normativa CLIA, sólo puede analizarse sangre entera con heparina litio. Para uso en laboratorios de complejidad moderada, se puede utilizar sangre entera heparinizada con litio, plasma heparinizado con litio o suero.

Es necesario un Certificado de Renuncia a CLIA para efectuar las pruebas que no exigen el cumplimiento con la normativa CLIA. Puede obtenerse un Certificado de Renuncia de los Centros para Servicios Medicare y Medicaid (CMS). Póngase en contacto con Abaxis Technical Service al (800) 822-2947 para recibir asistencia en la obtención de dicho certificado.

2. Resumen y explicación de las pruebas

Importancia clínica
La medición de las lipoproteínas y los lípidos séricos es muy útil en la identificación del riesgo de un individuo de desarrollar enfermedades cardiovasculares (CVD) y en el control de las intervenciones terapéuticas.[1] Las recomendaciones basadas en el consenso para la interpretación de las mediciones y valores límite fueron proporcionadas por el Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol.[2,3,4]

Los lípidos circulantes son transportados por las lipoproteínas. La fracción de las LDL, la principal lipoproteína que contribuye al desarrollo de la ateroesclerosis y para la cual se demostró de manera concluyente que es efectivo, transporta la mayor parte del colesterol circulante en la sangre. El colesterol sérico total se ha venido evaluando durante años para cuantificar la cantidad total de lipoproteínas como medio conveniente para evaluar el riesgo de CVD. Sin embargo, parte del colesterol es transportado por las HDL, que son partículas antiaterogénicas o se asocian de manera inversa con el riesgo de desarrollar CVD. Así pues, la cuantificación de las principales lipoproteínas transportadoras de colesterol, LDL y HDL, ofrece una mejor evaluación del riesgo general.

Los triglicéridos, el principal combustible del organismo, son transportados en el torrente sanguíneo por grandes lipoproteínas llamadas quilomicrones (CM). Las VLDL también transportan triglicéridos, fundamentalmente sintetizados en el hígado a partir del exceso de ácidos grasos. En la circulación, los triglicéridos son hidrolizados y sus ácidos grasos transportados en células periféricas que dejan partículas remanentes precursoras de las LDL. Tras un ayuno de una noche, los quilomicrones generalmente han desaparecido de la circulación. Los niveles más elevados de triglicéridos medidos en una muestra obtenida en condiciones de ayuno indican el deterioro en la depuración o sobreproducción, lo que puede aumentar el riesgo de desarrollo de CVD y hace que su medición sea útil en la identificación de las enfermedades metabólicas y el riesgo general.

El Instituto Nacional de Corazón, Pulmón y Sangre de los EE.UU. organizó el Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol, el cual reunió grupos de expertos para desarrollar recomendaciones clínicas para la clasificación y el tratamiento del colesterol elevado. Las recomendaciones más recientes, las directrices del Panel III para Tratamiento de Adultos,[2,3,4] basan las decisiones terapéuticas, fundamentalmente, en los niveles de LDL, calculados como parte de un panel de lípidos tras evaluar el colesterol total, el HDL y los triglicéridos. Los valores límite de LDL de 100, 130, 160 y 190 mg/dl definen las categorías: óptima, casi óptima, límite alto, riesgo alto y riesgo muy elevado. Un valor de HDL inferior a 40 mg/dl se define como bajo y se considera un factor de riesgo por la ATPIII, lo que modifica el objetivo terapéutico de LDL. Un valor de HDL superior a 60 mg/dl se define como alto y se considera deseable y un factor de riesgo negativo, reduciéndolo del número total de factores de riesgo al seleccionarse el objetivo terapéutico adecuado para las LDL. Para los triglicéridos, los valores límites de 150, 200 y 500 mg/dl definen los niveles normales, límite alto, riesgo alto y riesgo muy elevado. Además, óptimamente el colesterol no HDL calculado tendría que ser < 130 mg/dL, con un aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular asociado con una concentración de 130 – 189 mg/dL y un alto riesgo de enfermedad cardiovascular asociado con valores > 189 mg/dL.

El disco reactivo con panel lípido Plus Piccolo y el analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress constituyen un sistema diagnóstico *in vitro* que facilita al médico el diagnóstico y la monitorización de las siguientes enfermedades:

Alanina aminotransferasa:	Enfermedades hepáticas, incluidas la hepatitis vírica y la cirrosis
Aspartato aminotransferasa:	Hepatopatías, incluidas la hepatitis e ictericia viral; choque
Glucosa:	Alteraciones del metabolismo de carbohidratos, incluidas la diabetes mellitus del adulto y juvenil y la hipoglucemia

Al igual que con cualquier procedimiento diagnóstico de prueba, antes del diagnóstico final hay que considerar todos los restantes procedimientos de prueba, incluido el estado clínico del paciente.

3. Principios de los procedimientos

Colesterol total (CHOL)
El análisis CHOL de Abaxis es un método con criterio de valoración enzimático que utiliza la colesterol esterasa (CE) y la colesterol deshidrogenasa.[5]

$$\text{Ésteres de colesterol} + H_2O \xrightarrow{\text{CE}} \text{Colesterol} + \text{Ácidos grasos}$$

$$\text{Colesterol} + NAD^+ \xrightarrow{\text{CHDH}} \text{Colest-4-en-3-ona} + NADH + H^+$$

La CE hidroliza los ésteres de colesterol para formar colesterol y ácidos grasos. La reacción CHDH convierte al colesterol en colest-4-en-3-ona. La NADH se evalúa bicromáticamente a 340 nm y 405 nm. La producción de NADH es directamente proporcional a la cantidad de colesterol presente. También se controla una referencia específica para el análisis a fin de asegurar que ninguna reacción extraña interfiera con los cálculos de los niveles de CHOL.

Colesterol transportado por las lipoproteínas de alta densidad (HDL)
El análisis HDL de Abaxis es un método de precipitación que utiliza colesterol esterasa y colesterol oxidasa modificados con polietilenglicol [(PEG-CE) y (PEG-CO), respectivamente] para más especificidad.[6] A continuación se describe el mecanismo de la reacción:

$$\text{CM, LDL, VLDL y HDL} + \text{sulfato de dextrano} + MgSO_4 \longrightarrow \text{HDL} + \text{complejos no solubles}$$

$$\text{Complejos no solubles} \xrightarrow{\text{Centrifugación}} \text{Sedimentos de complejos no solubles contra la pared de la cubeta de la reacción}$$

$$\text{Ésteres de colesterol-HDL} + H_2O \xrightarrow{\text{PEG-CE}} \text{Colesterol} + \text{Ácidos grasos}$$

$$\text{Colesterol} + O_2 \xrightarrow{\text{PEG-CO}} \text{Colest-4-en-3-ona} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + TOOS + 4\text{-}AAP \xrightarrow{\text{Peroxidasa}} \text{Desarrollo de color}$$

TOOS = N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-metilanilina, sal de sodio, dihidrato
4-AAP = 4-Aminoantipirina

Los agentes precipitantes sulfato de dextrano y sulfato de magnesio ($MgSO_4$) forman específicamente complejos no solubles con quilomicrones (CM), VLDL y LDL en plasma o suero. Los sedimentos de los complejos no solubles se posan en la pared de la cubeta de la reacción en el interior del analizador. El HDL restante es hidrolizado por la PEG-CE para formar colesterol y ácidos grasos. El colesterol reacciona con PEG-CO para producir colest-4-en-3-ona y peróxido (H_2O_2). La reacción de la peroxidasa da como resultado la producción de un producto de color púrpura que tiene una absorbencia máxima a 500 nm y se usa como referencia de absorbencia a 630 nm. La concentración de colesterol de las HDL es directamente proporcional a la absorbencia máxima en esta reacción de criterio de valoración. También se controla una referencia de muestra específica con objeto de asegurar que ninguna reacción extraña interfiera con los cálculos de los niveles de HDL.

Triglicéridos (TRIG)
El análisis TRIG de Abaxis es un método con criterio de valoración enzimático que utiliza cuatro enzimas.[7,8] A continuación se describe el mecanismo de la reacción:

$$\text{Triglicéridos} + 3\,H_2O \xrightarrow{\text{Lipasa}} \text{Glicerol} + 3\,\text{Ácidos grasos}$$

$$\text{Glicerol} + ATP \xrightarrow{\text{Glicerol quinasa, Mg++}} \text{G-3-P} + ADP$$

$$\text{G-3-P} + NAD^+ \xrightarrow{\text{G-3-PDH}} DAP + NADH + H^+$$

$$NADH + H^+ + INT \xrightarrow{\text{Diaforasa}} NAD^+ + \text{Formazano}$$

G-3-P = Glicerol-3-fosfato
G-3-PDH = Glicerol-3-fosfato deshidrogenasa
DAP = Dihidroxiacetona fosfato
INT = Violeta de p-iodonitrotetrazolio

En el primer paso, los triglicéridos son hidrolizados a glicerol y ácidos grasos en una reacción catalizada por lipasa. El glicerol es a continuación fosforilado en una reacción catalizada por la glicerol quinasa (GK) que requiere la presencia de ATP. El glicerolfosfato es oxidado a dihidroxiacetona fosfato con la reducción simultánea de NAD^+ a NADH en una reacción catalizada por glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (G-3-PDH). La NADH se oxida con la reducción simultánea de INT en una reacción catalizada por diaforasa. La intensidad del formazano, muy coloreado, se mide bicromáticamente a 500 nm y 850 nm y es directamente proporcional a la concentración de triglicéridos en la muestra. También se controla una referencia específica para el análisis a fin de asegurar que ninguna reacción extraña interfiera con los cálculos de los niveles de TRIG. Los resultados proporcionan una medida de los triglicéridos totales sin una referencia de glicerol.

Alanina aminotransferasa (ALT)
La alanina aminotransferasa (ALT) ha sido medida mediante tres métodos. Dos de estos métodos: la técnica de acoplamiento colorimétrico por dinitrofenilhidracina[9,10] y la prueba enzimática fluorescente, se usan muy raramente.[11] Un método enzimático basado en el trabajo de Wróblewski y LaDue[12] es la técnica más común para la determinación de las concentraciones de ALT en suero. La Federación Internacional de Química Clínica (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC) ha propuesto como procedimiento recomendado un procedimiento de Wróblewski y LaDue modificado.[13]

El método desarrollado para ser usado con el analizador Piccolo o el analizador Piccolo xpress es una modificación del procedimiento recomendado por la IFCC. En esta reacción, la ALT cataliza la transferencia de un grupo amino de la L-alanina al α-cetoglutarato para formar L-glutamato y piruvato. La lactato deshidrogenasa cataliza la conversión de piruvato a lactato. Al mismo tiempo, NADH se oxida a NAD^+, como se muestra en el esquema siguiente de la reacción.

$$\text{L-Alanina} + \alpha\text{-cetoglutarato} \xrightarrow{\text{ALT}} \text{L-Glutamato} + \text{Piruvato}$$

$$\text{Piruvato} + \text{NADH} + \text{H}^{+} \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Lactato} + \text{NAD}^{+}$$

El índice de cambio de la diferencia de absorbencia entre 340 nm y 405 nm se debe a la conversión de NADH a NAD^+ y es directamente proporcional a la cantidad de ALT presente en la muestra.

Aspartato aminotransferasa (AST)
La prueba de aspartato aminotransferasa (AST) se basa en el método cinético de Karmen[14], de acuerdo con la modificación de Bergmeyer.[15] El método de referencia actual de la Federación de Química Clínica (IFCC) utiliza la técnica de Karmen/Bergmeyer de acoplamiento de malato deshidrogenasa (MDH) y nicotinamida dinucleótido reducida (NADH) en la detección de AST en suero.[15,16] Se agrega lactato deshidrogenasa (LDH) a la reacción para reducir la interferencia causada por el piruvato endógeno.

La AST cataliza la reacción de L-aspartato y α-cetoglutarato en oxaloacetato y L-glutamato. El oxaloacetato es convertido en malato y el NADH es oxidado a NAD^+ por el catalizador MDH.

$$\text{L-aspartato} + \alpha\text{-cetoglutarato} \xrightarrow{\text{AST}} \text{Oxaloacetato} + \text{L-glutamato}$$

$$\text{Oxaloacetato} + \text{NADH} + \text{H}^{+} \xrightarrow{\text{MDH}} \text{Malato} + \text{NAD}^{+}$$

El cambio en el índice de absorbencia a 340 nm/405 nm debido a la conversión de NADH a NAD^+ es directamente proporcional a la cantidad de AST en la muestra.

Glucosa (GLU)
Las primeras mediciones de la concentración de glucosa fueron realizadas mediante métodos de reducción del cobre (como Folin-Wu[17] y Somogyi-Nelson[18,19]). La falta de especificidad en las técnicas de reducción del cobre llevó al desarrollo de procedimientos cuantitativos con las enzimas hexoquinasa y glucosa oxidasa. La prueba de glucosa incorporada en el disco reactivo con panel lípido Plus Piccolo es una versión modificada del método de la hexoquinasa, que ha sido propuesto como la base del método de referencia para glucosa.[20]

La reacción de glucosa con adenosina trifosfato (ATP), catalizada por la hexoquinasa (HK), produce glucosa-6-fosfato (G-6-P) y adenosina difosfato (ADP). La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PDH) cataliza la reacción de G-6-P en 6-fosfogluconato y la reducción de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD^+) a NADH.

$$\text{Glucosa} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Hexoquinasa}} \text{Glucosa-6-fosfato} + \text{ADP}$$

$$\text{G-6-P} + \text{NAD}^{+} \xrightarrow{\text{G-6-PDH}} \text{6-Fosfogluconato} + \text{NADH} + \text{H}^{+}$$

La absorbencia se mide bicromáticamente a 340 nm y 850 nm. La producción de NADH es directamente proporcional a la cantidad de glucosa en la muestra.

LDL (calculadas)
El analizador Piccolo o el analizador Piccolo xpress calcula automáticamente la concentración de LDL en cada muestra mediante los valores determinados directamente para el colesterol total, HDL y triglicéridos y la ecuación Friedewald estándar.[21] Esta ecuación no es válida para concentraciones de triglicéridos superiores a los 400 mg/dl, para pacientes que no se encuentran en condiciones de ayuno y para pacientes con hiperlipoproteinemia tipo III (disbetalipoproteinemia).[21,22] No se analiza un valor de LDL en el caso de muestras con triglicéridos superiores a 400 mg/dl o si no se dispone de otro valor de análitos medido directamente. En la tarjeta impresa, el valor calculado para LDL va seguido de una "c" para indicar que ha sido calculado.

VLDL (calculado)

El analizador Piccolo o el analizador Piccolo xpress calcula automáticamente la concentración de VLDL en cada muestra mediante la ecuación estándar de triglicéridos/5 (si las unidades están en mg/dl).[21] Esta ecuación no es válida para concentraciones de triglicéridos superiores a los 400 mg/dl, pacientes que no se encuentran en condiciones de ayuno y pacientes con hiperlipoproteinemia tipo III (disbetalipoproteinemia).[21,22] Por supuesto, si no se dispone del valor de los triglicéridos no se calcula el valor de las VLDL. En la tarjeta impresa, el valor calculado para VLDL va seguido de una "c" para indicar que ha sido calculado.

Relación entre colesterol total/HDL (calculado)
El analizador Piccolo o el analizador Piccolo xpress calcula automáticamente la relación entre colesterol total/HDL (abreviada como TC/H) para cada muestra. Si falta el valor de colesterol total o el de HDL medido directamente, no se proporciona la relación. En la tarjeta impresa, el valor calculado para TC/H va seguido de una "c" para indicar que ha sido calculado.

No HDL (calculado) – solo está disponible en xpress
El analizador Piccolo xpress calcula automáticamente el colesterol no HDL (abreviado como nHDLc) de cada muestra. Se calcula el nHDLc restando el colesterol HDL del colesterol total (CHOL). En la cinta de resultados, el valor calculado para el nHDLc es seguido de una "C" para indicar que es un cálculo. Si falta el valor del colesterol total (CHOL) o de HDL medido directamente, no se calcula el nHDLc.

4. Principios de la operación

Consulte el Manual del operador del analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress para obtener información sobre los principios y limitaciones del procedimiento. Schembri et al. han aportado una descripción detallada del analizador y del disco reactivo Piccolo.[23]

5. Descripción de los reactivos

Reactivos
Cada disco reactivo con panel lípido Plus Piccolo contiene soportes sólidos reactivos secos específicos para la prueba (descritos a continuación). En cada disco se incluye un soporte sólido reactivo seco de referencia (que consta de amortiguador, surfactantes y excipientes) para usar en el cálculo de concentraciones de alanina aminotransferasa (ALT), asparato aminotransferasa (AST), glucosa (GLU) y colesterol transportado por las lipoproteínas de alta densidad (HDL). También se incluyen en el disco soportes sólidos especializados de referencia para calcular concentraciones de CHOL y TRIG. Cada disco contiene además un diluyente que consta de un surfactante y estabilizadores.

Tabla 1: Reactivos

Componente	Cantidad/disco
4-Aminoantipirina	6,7 µg
Adenosina 5'-trifosfato, sal disódica	21,2 µg
L-alanina	492 µg
Ácido L-aspártico	426 µg
Ascorbato oxidasa	0,042 U
Colesterol deshidrogenasa	0,27 U
Colesterol esterasa (Genzyma-N)	0,27 U
Colesterol esterasa (Genzyma-P)	0,0080 U
Sulfato de dextrano	8,4 µg
Diaforasa	0,25 U
N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-metilanilina, sal sódica, dihidrato (TOOS)	79 µg
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	0,046 U
Glicerol quinasa	0,084 U
Glicerol-3-fosfato deshidrogenasa	0,21 U
Hexoquinasa	0,059 U
Cloruro de iodonitrotetrazolio (INT)	8,4 µg
α-cetoglutarato, sal disódica	37 µg
Ácido α-cetoglutárico	30 µg
Lactato deshidrogenasa	0,070 U

Lipasa	16,8 U
Acetato de magnesio, tetrahidrato	6,8 µg
Cloruro de magnesio, hexahidrato	8,6 µg
Sulfato de magnesio, heptahidrato	197 µg
Malato deshidrogenasa	0,013 U
Nicotinamida adenina dinucleótido, ácido libre	19,7 µg
Nicotinamida adenina dinucleótido, sal monosódica	455 µg
Nicotinamida adenina dinucleótido, reducida	9,6 µg
PEG-colesterol esterasa	0,013 U
PEG-colesterol oxidasa	0,089 U
Peroxidasa	0,27 U
Amortiguadores, surfactantes, excipientes y estabilizadores	

Advertencias y precauciones

- Para uso diagnóstico *in vitro*.

- El envase del diluyente del disco reactivo se abre automáticamente cuando se cierra el cajón del analizador. Un disco con un contenedor diluyente abierto no puede volver a utilizarse. Asegúrese de que la muestra o la prueba esté colocada en el disco antes de cerrar el cajón.

- Los discos de reactivo usados contienen líquidos del cuerpo humano. Siga las prácticas de seguridad del laboratorio cuando manipule y elimine discos usados.[24] Consulte el Manual del operador del analizador químico de sangre Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress para obtener instrucciones sobre la limpieza de derrames biopeligrosos.

- Los discos reactivos son de plástico y pueden romperse o estallarse si se caen. Nunca use un disco que se haya caído ya que puede esparcir material biológico peligroso en el interior del analizador.

- El reactivo en soporte sólido puede contener sustancias ácidas o cáusticas. El usuario no entra en contacto con el reactivo en soporte sólido si sigue los procedimientos recomendados. En el caso de que se manipule el reactivo en soporte sólido (por ejemplo, limpieza tras caerse y romperse un disco de reactivo) se debe evitar la ingestión, el contacto con la piel y la inhalación del mismo.

Instrucciones para la manipulación de los reactivos

Los discos de reactivo pueden usarse inmediatamente después de retirarse del refrigerador, sin calentarlos previamente. Deseche los discos no usados transcurridos 20 minutos de la apertura de la bolsa. No permita que los discos sellados en sus bolsas de aluminio permanezcan a temperatura ambiente más de 48 horas antes del uso. Abra la bolsa de aluminio sellada, saque el disco y utilícelo de acuerdo con las instrucciones proporcionadas en el Manual del operador del analizador químico de sangre Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress.

Almacenamiento

Almacene los discos de reactivo en sus bolsas selladas a 2-8°C (36-46°F). No exponga los discos abiertos o sin abrir a la luz solar directa o a temperaturas superiores a los 32°C(90°F). Los discos reactivos pueden ser utilizados hasta la fecha de caducidad impresa en el rótulo de la caja y en cada bolsa. La fecha de caducidad también aparece codificada en el código de barras impreso en el anillo del código de barras. Si los reactivos han caducado, aparecerá un mensaje de error en la pantalla del analizador químico de sangre Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress.

Indicaciones de inestabilidad/deterioro del disco reactivo.

Una bolsa rasgada o rota puede permitir que la humedad llegue al disco sin usar y afecte de manera negativa la eficacia del reactivo. No use discos de bolsas dañadas.

6. Instrumento

Para obtener información completa sobre el uso del analizador, consulte el Manual del operador del analizador químico de sangre Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress.

7. Obtención y preparación de las muestras

En la sección "Obtención de muestras" del manual del operador del analizador químico de sangre Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress se describen las técnicas para la obtención de las muestras.

- De acuerdo con las ATP III,[2,3,4] para determinar CHOL, HDL, TRIG y LDL deben usarse muestras obtenidas en condiciones de ayuno (entre ocho y doce horas). Por lo tanto, se recomienda que con el disco con panel lípido Plus se usen muestras obtenidas en condiciones de ayuno. Si el paciente no está en ayunas, los valores calculados para TRIG y LDL no serán válidos.

- Para las muestras de sangre entera o plasma use solamente tubos de obtención de muestras evacuados con heparina litio (tapón verde), con o sin separadores de gel. Para las muestras de suero use tubos para obtención de muestras sin aditivo (tapón rojo) o tubos separadores de suero (tapón rojo o rojo/negro).

- El tamaño mínimo de muestra requerido es ~100 µl de sangre entera heparinizada, plasma heparinizado, suero o material de control. La cámara de muestra del disco reactivo puede contener hasta 120 µl de muestra.

- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben homogeneizarse antes de transferir una muestra al disco reactivo. Invierta cuidadosamente el tubo para obtención de muestras varias veces justo antes de transferir la muestra. No agite el tubo para obtención de muestras; esto puede causar hemólisis.

- Las muestras de sangre entera obtenidas por venopunción deben analizarse en un intervalo máximo de 60 minutos desde que fuera obtenida la extracción.[25,26] Las concentraciones de **glucosa** se ven afectadas por el tiempo transcurrido desde que el paciente ingiere alimentos y por el tipo de muestra que ha sido obtenida del paciente. Para determinar los resultados de glucosa con precisión, deben obtenerse muestras de un paciente en condiciones de ayuno durante al menos 12 horas. Las concentraciones de glucosa disminuyen aproximadamente 5-12 mg/dl por hora en muestras no centrifugadas almacenadas a temperatura ambiente.[27]

- La refrigeración de muestras de sangre entera puede ocasionar cambios significativos en las concentraciones de **aspartato aminotransferasa** y **glucosa**.[28] La muestra puede separarse en plasma o suero, y almacenarse en tubos de ensayo tapados a 2-8°C (36-46°F) si la muestra no se puede analizar en un intervalo de tiempo de un máximo de 60 minutos.

- Comience la prueba en los 10 minutos siguientes a la transferencia de la muestra al disco reactivo.

8. Procedimiento

Materiales suministrados
- Un disco reactivo con panel lípido Plus Piccolo PN: 400-1030 (una caja de discos PN: 400-0030)

Materiales necesarios pero no suministrados
- Analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress

- Con cada analizador químico de sangre Piccolo o analizador químico Piccolo xpress se suministra una pipeta de transferencia de muestras (volumen fijado de aproximadamente 100 µl) y puntas, y se pueden solicitar repuestos a Abaxis.

- Reactivos de control disponibles comercialmente recomendados por Abaxis (póngase en contacto con el Servicio Técnico de Abaxis para solicitar materiales de control homologados y valores de referencia).

- Cronómetro

Parámetros de prueba
El analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress funciona a temperaturas ambiente entre 15 y 32°C (59-90°F). El tiempo de análisis para cada disco reactivo con panel lípido Plus Piccolo es inferior a 15 minutos. El analizador mantiene el disco reactivo a una temperatura de 37°C (98,6°F) durante el intervalo de medición.

Procedimiento de prueba
La obtención completa de la muestra y los procedimientos de operación paso a paso se detallan en el Manual del usuario del analizador químico de sangre Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress.

Calibrado
El analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress es calibrado por el fabricante antes de su envío. El código de barras impreso en el anillo del código de barras proporciona al analizador los datos de calibración específicos del disco. Ver el Manual del operador del analizador químico de sangre Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress.

Control de calidad
Consulte la Sección 2.4 del manual del usuario de Piccolo o la Sección 6 (Calibración y control de calidad) del manual del usuario de Piccolo xpress. El rendimiento del analizador químico sanguíneo Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress puede verificarse por medio de controles. Póngase en contacto con el Servicio de asistencia técnica de Abaxis para solicitar una lista de los materiales de control de calidad homologados con los límites de aceptación. Otros controles basados en plasma o suero humanos pueden no ser compatibles. Los materiales de control de calidad deben almacenarse conforme a las instrucciones del prospecto incluido con los controles.

Si los controles dan resultados fuera de los límites, repita una vez. Si siguen fuera de los límites, llame al servicio de asistencia técnica. Si los controles incumplen los límites de la etiqueta, no utilice sus resultados. Consulte el Manual del usuario de Piccolo o Piccolo xpress para obtener información más detallada sobre la realización, el registro, la interpretación y la extrapolación de los resultados de control.

Laboratorios exonerados: Abaxis recomienda las pruebas de control de la siguiente manera:

- Al menos cada 30 días.
- Siempre que hayan cambiado las condiciones de laboratorio de manera significativa, por ejemplo, traslado del Piccolo a otro lugar o cambios en el control de temperatura.
- Cuando se indique la formación o nueva formación del personal.
- Con cada lote nuevo (análisis exonerados por CLIA en laboratorios en estado exonerado).

Laboratorios no exonerados: Abaxis recomienda que las pruebas de control se hagan conforme a las recomendaciones federales, estatales y locales.

9. Resultados

El analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress prueba, calcula e imprime automáticamente las concentraciones de análitos en la muestra. Para aquellos resultados calculados y no determinados directamente, LDL, VLDL y TC/H, se añade una "c" a los resultados para indicar que han sido calculados. Podrá encontrarse información pormenorizada sobre los cálculos de la velocidad de la reacción y criterios de valoración en el Manual del usuario del analizador químico de sangre Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress.

En el Manual del usuario se detalla también la interpretación de los resultados, los cuales se imprimen en tarjetas de resultado proporcionadas por Abaxis. La parte posterior de las tarjetas de resultados es adhesiva para facilitar su colocación en los archivos del paciente.

10. Limitaciones del procedimiento

Las limitaciones generales del procedimiento se detallan en el Manual del usuario del analizador químico de sangre Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress**.**

- El único anticoagulante **recomendado para usar** con el sistema químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress es **heparina litio**. No utilizar heparina sódica.

- Las muestras con hematocritos superiores al 62% del volumen de eritrocitos concentrados pueden arrojar resultados imprecisos. Las muestras con hematocritos elevados pueden ser analizadas como hemolizadas. Estas muestras pueden centrifugarse para obtener plasma y a continuación analizarse de nuevo en un disco reactivo nuevo.

- **Todo resultado para una prueba particular que supere los valores del análisis deberá analizarse por otro método de prueba homologada o ser enviado a un laboratorio de referencia. No diluya la muestra y vuelva a analizarla en el analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress.**

Advertencia: En muy raros casos el extenso uso del sistema químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress ha demostrado que una muestra colocada en el disco reactivo puede no fluir de manera adecuada en la cámara de muestras. Debido al flujo no uniforme, puede analizarse una cantidad inadecuada de muestra y varios de los resultados pueden caer fuera de los valores esperados. La muestra puede volverse a analizar con un nuevo disco reactivo.

Interferencia
Se probaron sustancias como interferentes con los análitos. Se prepararon mezclas de suero humano. La concentración a la cual se probó cada interferente potencial se basó en los niveles de prueba en NCCLS EP7-A.[29]

Efectos de las sustancias endógenas

- Los interferentes fisiológicos (hemólisis, ictericia y lipidemia) provocan cambios en las concentraciones analizadas de algunos análitos. Los índices de la muestra se imprimen en la parte inferior de cada tarjeta de resultados para informar al usuario sobre los niveles de interferentes presentes en cada muestra.

- El analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress suprime todo resultado que resulte afectado por una interferencia superior al 10% por hemólisis, lipidemia o ictericia. En lugar del resultado, la tarjeta tendrá impreso "HEM", "LIP" o "ICT" respectivamente.

- Póngase en contacto con el Servicio Técnico de Abaxis para obtener información acerca de los niveles máximos de sustancias endógenas.

Efectos de las sustancias terapéuticas
Se seleccionaron diecinueve sustancias terapéuticas como interferentes potenciales para los métodos de prueba de Abaxis sobre la base de las recomendaciones de Young.[30] La interferencia significativa se define como una desviación superior a 10% en el resultado de una muestra dentro de los valores normales. Las mezclas de suero humano fueron enriquecidas con una concentración conocida de los fármacos o químicos y posteriormente fueron analizadas.

Tabla 2: sustancias terapéuticas evaluadas

	Rangos fisiológico o terapéutico[29,30] (mg/dl)	**Concentración más elevada probada (mg/dl)**
Acetaminofeno	2-10	100
Acetoacetato, litio	0,05-3,6	102
Ácido acetilsalicílico	1-2	50
Ácido ascórbico		3
Digoxina	0,8-1,5	5
Glutatión		30
Heparina, litio		4,4 (800 U/dl)
β-Hydroxibutarato	0,21-2,81	1.000
Ibuprofeno	0,5-4,2	50
Isoniacida	0,1-0,7	4
α-cetoglutarato		5
Lactato, litio	6-12	84
Lidocaína	0,5-0,6	1
Meticilina sódica		100
Oxaloacetato		132
Fenitoína	1-2	3
Piruvato	0,3-0,9	44
Ácido salicílico		50
Teofilina	1-2	20

Tabla 3: Sustancias con interferencia significativa >10%

	Fisiológico/ Terapéutico Valores (mg/dl)	Concentración con > 10% interferencia (mg/dl)	% Interferencia
Alanina aminotransferasa (ALT)			
Oxaloacetato		132	Incremento del 700%
Asparato aminotransferasa (AST)			
Oxaloacetato		132	Descenso del 95%
Glucosa (GLU)			
Oxaloacetato		132	Descenso del 14%
Piruvato	0,3-0,9	44	Descenso del 16%

Se dosificaron el oxaloacetato y piruvato para determinar la concentración que diese como resultado una interferencia de menos del 10%. Para el oxaloacetato el límite es 6,6 mg/dl, 33 mg/dl, y 13,2 mg/dl respectivamente para ALT, AST y GLU. Para el piruvato el límite es 11 mg/dl para GLU.

11. Valores límite/Valores esperados

El Programa Nacional de Educación sobre Colesterol ha establecido los umbrales consensuados para los análitos lípidos/lipoproteínas de la siguiente manera: [2,3,4]

Tabla 4: Valores de decisión médica[2,3,4]

	Interpretación	Umbrales mg/dl	Umbrales mmol/l
Colesterol total (CHOL)	Deseables	< 200	< 5,17
	Límite elevado	200-239	5,17-6,18
	Elevado	≥ 240	6,20
HDL	HDL bajo - factor de riesgo	< 40	< 1,03
	HDL alto - factor de riesgo negativo (deseable)	≥ 60	≥ 1,55
Triglicéridos (TRIG)	Normal	< 150	< 1,70
	Límite elevado	150-199	1,70-2,25
	Elevado	200-499	2,26-5,64
	Muy elevado	≥ 500	≥ 5,65
LDL*	Óptimo	< 100	< 2,58
	Casi óptimo	100-129	2,58-3,33
	Límite elevado	130-159	3,36-4,11
	Elevado	160-189	4,13-4,88
	Muy elevado	≥ 190	≥ 4,91
VLDL (CALC) **	Normal	< 30	
	Elevado	≤ 30	
		Varón	Mujer
nHDLc (CALC)**	Óptimo	< 130	< 3.37
	Riesgo aumentado	130–189	3.37–4.90

	Alto riesgo	> 189	> 4.90
Relación colesterol total/HDL	Bajo riesgo	≤ 5	≤ 4,5
	Alto riesgo	> 5	> 4,5

* El Piccolo o Piccolo xpress calcula la concentración de LDL mediante la ecuación Friedewald.[21]
** Para más información consulte: NCEP, ATP III Informe 2002, Sección II. Rationale for Intervention (Lógica para la intervención), 3. Other Lipid Risk Factors (Otros factores de riesgo de lípidos), Página II-8.[2]

Relación colesterol total/HDL (TC/H)
La relación entre colesterol total y HDL (TC/H) se calcula para comodidad del usuario. Una relación de TC/H ≤5 se suele considerar deseable para los varones. Como las mujeres suelen tener valores de HDL más elevados que los varones, algunos recomiendan un umbral de 4,5 para las mujeres.[31] Esta relación fue defendida por algunos como una manera simple y cómoda de expresar el riesgo de CVD en un solo número, incorporando el colesterol total como marcador para las lipoproteínas aterogénicas en el numerador y el colesterol HDL antiaterogénico en el denominador.1 El usuario debe saber que, aún cuando la relación TC/H es un pronosticador importante del riesgo de CVD, tal como lo demuestran numerosos estudios epidemiológicos,[1] el NCEP no recomienda su uso en el control de pacientes. Las recomendaciones clínicas de NCEP basan las decisiones terapéuticas en las lipoproteínas individuales (Tabla 4) y consideran el uso de la relación como una desviación posible de la prioridad: las mediciones de las lipoproteínas individuales.[2,3,4]

Colesterol no HDL (nHDLc)
El informe de NCEP, ATP III de 2002, informó sobre la utilidad clínica del nHDLc calculado. Los estudios han demostrado que el colesterol no HDL indica una correlación más fuerte con la mortalidad coronaria que el colesterol LDL. Además, el colesterol no HDL tiene una correlación alta con la apoliproteína B (apoB) total, que es la apoliproteína principal asociada con todas las lipoproteínas aterogénicas"[2].

Valores esperados
Se usaron muestras de un total de 125 adultos varones y mujeres, analizadas en el analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress para determinar los rangos de referencia. Estos rangos sólo se ofrecen como guía. Se recomienda que su consultorio o institución establezca los rangos normales para su población de pacientes en particular.

Tabla 5: Intervalos de referencia de Piccolo

Análito	Unidades comunes	Unidades SI
Alanina aminotransferasa (ALT)	10-47 U/l	10-47 U/l
Aspartato aminotransferasa (AST)	11-38 U/l	11-38 U/l
Glucosa (GLU)	73-118 mg/dl	4,05-6,55 mmol/l

12. Características de eficacia

Linealidad
La química para cada análito es lineal a lo largo de los límites dinámicos enumerados a continuación, cuando el analizador químico de sangre Piccolo o el analizador químico Piccolo xpress es operado de acuerdo con el procedimiento recomendado (consulte el Manual del usuario del analizador químico de sangre Piccolo o del analizador químico Piccolo xpress). Esta evaluación utilizó las NCCLS EP6-P2.[32]

Tabla 6: Límites dinámicos de Piccolo

Análito	Unidades comunes	Unidades SI
CHOL	20-520 mg/dl	0,52-13,5 mmol/l
HDL	15-100 mg/dl	0,39-2,59 mmol/l
TRIG	20-500 mg/dl	0,23-5,65 mmol/l
ALT	5-1000 U/l	5-1000 U/l
AST	5-1000 U/l	5-1000 U/l
GLU	10-700 mg/dl	0,56-38,9 mmol/l

Si la concentración de análitos es superior al rango de medición (límites dinámicos) pero inferior al rango del sistema, en la tarjeta impresa se indicará un signo ">", en el límite superior y un asterisco detrás del número, como en el ejemplo CHOL >520* mg/dl. Si se encuentra por debajo de los límites dinámicos, se imprimirá un "<", con un asterisco, como en el ejemplo CHOL <20* mg/dl. Para valores que se encuentren extremadamente por encima del rango medición (rango del sistema), se imprimirá "~~~" en lugar del resultado. Cada vez que aparezca "~~~" en la tarjeta impresa, recoja una nueva muestra y realice de nuevo la prueba. Si los resultados de la segunda muestra se vuelven a suprimir, póngase en contacto con el Servicio Técnico de Abaxis.

Sensibilidad
El límite inferior del rango (dinámicos) notificable para cada análito es: colesterol 20 mg/dl (0,52 mmol/l); HDL 15 mg/dl (0,39 mmol/l), triglicéridos 20 mg/dl (0,23 mmol/l), alanina aminotransferasa 5 U/l, aspartato aminotransferasa 5 U/l, y glucosa 10 mg/dl (0,56 mmol/l).

Precisión
Los estudios de precisión se realizaron siguiendo las recomendaciones NCCLS EP5-A[33] con modificaciones basadas en NCCLS EP18-P [34] para dispositivos a usar con la unidad. Los resultados para la precisión intraserial y total fueron determinados con dos muestras. En la Tabla 7 se muestran las estadísticas de precisión representativas.

Tabla 7: Precisión

Análito	Tamaño de la muestra	Intraserial	Total
CHOL (mg/dl)			
Suero 1	N = 160		
Media		223,7	223,7
DE		3,0	5,7
% VR		1,3	2,6
Suero 2	N = 160		
Media		202,2	202,2
DE		3,1	4,4
% VR		1,5	2,2
HDL (mg/dl)			
Suero 1	N = 160		
Media		55,3	55,3
DE		1,4	1,9
% VR		2,6	3,5
Suero 2	N = 160		
Media		38,0	38,0
DE		1,3	1,6
% VR		3,5	4,3
TRIG (mg/dl)			
Suero 1	N = 160		
Media		206,8	206,8
DE		4,7	5,5
% VR		2,3	2,6
Suero 2	N = 160		
Media		163,7	163,7
DE		1,8	2,4
% VR		1,1	1,5
ALT (U/l)			
Control 1	N = 80		
Media		21	21
DE		2,76	2,79
% VR		13,4	13,5
Control 2	N = 80		
Media		52	52
DE		2,70	3,25
% VR		5,2	6,2
AST (U/l)			
Control 1	N = 80		
Media		46	46
DE		1,58	1,59
% VR		3,4	3,5
Control 2	N = 80		
Media		147	145
DE		1,70	1,83
% VR		1,2	1,3
Glucosa (mg/dl)			
Control 1	N = 80		
Media		66	66
DE		0,76	1,03
% VR		1,1	1,6
Control 2	N = 80		
Media		278	278
DE		2,47	3,84
% VR		0,9	1,4

Estos datos indican que los análisis de CHOL, HDL y TRIG cumplen los criterios de precisión del NCEP.[2,3,4]

Correlación
Las muestras de suero fueron obtenidas y analizadas en el analizador químico de sangre Piccolo y por métodos de comparación. Todos los resultados de las pruebas fueron generados en un sitio de campo. Las muestras se eligieron a fin de proporcionar una distribución de valores siguiendo las recomendaciones NCCLS EP9-A2 como el objetivo para cada análito.[35] En la Tabla 8 se muestran las correlaciones estadísticas representativas.

Tabla 8: Correlación del analizador químico de sangre Piccolo con métodos de comparación

Análisis	Coeficiente de correlación (r)	Pendiente	Inter-cepción	VER	N	Límites de la muestra	Método de comparación
Colesterol (mg/dl)	0,997	1,079	-17,1	4,5	174	115-342	Análisis de Colesterol Bayer en Hitachi 917
HDL (mg/dl)	0,965	0,851	8,3	3,9	166	23 - 97	Roche HDL-C plus en Hitachi 917
Triglicéridos (mg/dl)	0,999	0,983	8,2	4,4	172	38–487	Análisis de triglicéridos Bayer en Hitachi 917
Alanina aminotransferasa (U/l)	0,981 0,985	0,905 0,946	1,3 -2,5	3,21 2,84	86 67	10-174 10-174	Paramax® Technicon
Asparato aminotransferasa (U/l)	0,93 1,0	0,87 0,97	5,3 3,0	2,76 1,9	159 46	13-111 13-252	Paramax DAX™
Glucosa (mg/dl)	0,987 0,997	1,009 0,943	-2,8 1,2	3,89 4,69	251 91	72-422 56-646	Paramax Beckman

Precisión – Certificación de la Red de Laboratorios del Método de Referencia del Colesterol (CRMLN)
La precisión de los análisis de Piccolo para el colesterol total y el colesterol de las HDL fue establecida al completarse el proceso de certificación del CRMLN para estos analitos en suero. Una parte clave de la certificación CRMLN es el análisis de regresión lineal del análisis de Piccolo comparado con los métodos de referencia. La precisión del análisis de colesterol total en comparación con el método de referencia de Abell-Kendall se indica por el coeficiente de correlación (R^2) de 0,996, la pendiente de 0,972 y la intercepción de 7,2 mg/dl. Una interserial (n=10) para el análisis de colesterol total de Piccolo se determinó en 0,8%.

Para el análisis HDL de Piccolo, en comparación con el método de referencia HDL, la precipitación seguida por el análisis de colesterol de Abell-Kendall, el coeficiente de correlación (R^2) fue 0,986, pendiente de 0,968 e intercepción de 2,1 mg/dl. Una interserial (n=20) VR para el análisis de HDL de Piccolo se determinó en 1,9%.

El rendimiento analítico observado cumplió los requisitos para la certificación CRMLN para el colesterol total y HDL para el suero. La certificación CRMLN para los triglicéridos aún no está disponible en los Estados Unidos. Sin embargo, el estudio de correlación descrito más arriba para los triglicéridos fue realizado en un laboratorio que fue estandarizado para triglicéridos por medio del Programa de Estandarización de Lípidos CDC-NHLBI.

Resultados del estudio de usuario sin capacitación
Se realizó un estudio de "usuario sin capacitación" en el cual los participantes recibieron sólo las instrucciones para el análisis y se les pidió que realizaran el análisis de 3 discos con muestras aleatorizadas ciegas. Las muestras consistieron de mezclas de suero preparadas a tres niveles para cada uno de los seis analitos, colesterol total, colesterol HDL, triglicéridos, ALT, AST y glucosa. Los participantes no recibieron ningún tipo de capacitación con respecto al uso del análisis. Se inscribió un total de aproximadamente 60 participantes provenientes de 3 sitios, representando una población demográfica diversa (educacional, edad, sexo, etc.).

Las tablas a continuación presentan el resumen del rendimiento para cada analito.

Colesterol total

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	63	63	63
Media	144,2 mg/dl	198,4 mg/dl	245,1 mg/dl
% VR	2,9%	2,3%	1,3%
Límites observados	122–154	186–222	237–255
Porcentaje de los resultados dentro de los límites ± 11,1%*	98,4% (62/63) 95% CI: 91,5% a 100%	100% (63/63) 95% CI: 94,3% a 100%	100% (63/63) 95% CI: 94,3% a 100%

* Este porcentaje se basa en la premisa de que no es posible distinguir correctamente entre los valores normales y aquellos anormales cuando los errores son mayores que la cuarta parte de los límites normales. Se consideraron límites de (140 mg/dl - 220 mg/dl).

Colesterol HDL

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	63	63	63
Media	29,4 mg/dl	44,4 mg/dl	58,9 mg/dl
% VR	3,3%	3,2%	2,0%
Límites observados	28–32	42–48	57–62
Porcentaje de los resultados dentro de los límites ± 15,0%	100% (63/63) 95% CI: 94,3% a 100%	100% (63/63) 95% CI: 94,3% a 100%	100% (63/63) 95% CI: 94,3% a 100%

Triglicéridos

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	63	63	63
Media	83,4 mg/dl	152,7 mg/dl	205,6 mg/dl
% VR	3,0%	1,5%	0,9%
Límites observados	77–96	148–164	201–210
Porcentaje de los resultados dentro de los límites ± 15,0%	100% (63/63) 95% CI: 94,3% a 100%	100% (63/63) 95% CI: 94,3% a 100%	100% (63/63) 95% CI: 94,3% a 100%

Alanina aminotransferasa (ALT)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	45,4 U/l	98,9 U/l	184,3 U/l
% VR	3,7%	1,7%	1,5%
Límites observados	42–53	96–103	175–191
Porcentaje de los resultados dentro de los límites ± 15,0%	98.4% 61/62 95% CI: 91,3% a 100%	100% 62/62 95% CI: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% CI: 94,2% a 100%

Aspartato aminotransferasa (AST)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	56,0	120,4	276,3
% VR	2,4%	1,1%	1,0%
Límites observados	54–60	117–124	266–285
Porcentaje de los resultados dentro de los límites ± 15,0%	100% 62/62 95% CI: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% CI: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% CI: 94,2% a 100%

Glucosa (GLU)

	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
N	62	62	62
Media	95,2	130,3	365,8
% VR	1,1%	1,0%	0,8%
Límites observados	93–98	125–133	351–373
Porcentaje de los resultados dentro de los límites ± 10,4%**	100% 62/62 95% CI: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% CI: 94,2% a 100%	100% 62/62 95% CI: 94,2% a 100%

** Se consideraron límites de (65 mg/dl - 99 mg/dl).

13. Bibliografía

1. Castelli, WP, et al. Lipids and risk of coronary heart disease. The Framingham Study. Ann Epidemiol 1992; 2: 23-28.
2. National Cholesterol Education Program Expert Panel. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (ATP III). NIH Publication. Bethesda, MD: National Heart, Lung, and Blood Institute, 2002.
3. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA 2001; 285: 2486-97.
4. Warnick, GR, et al. Impact of the third cholesterol report from the Adult Treatment Panel of the National Cholesterol Education Program on the Clinical Laboratory. Clin Chem 2002; 48: 11-17.
5. Kayamori, Y, et al. Endpoint colorimetric method for assaying total cholesterol in serum with cholesterol dehydrogenase. Clin Chem 1999; 45: 2158-2163.

13. Bibliografía (continuación)

6. Warnick G, Nauck M, Rifai N. Evolution of methods for measurement of high-density lipoprotein cholesterol: from ultracentrifugation to homogeneous assays. Clin Chem 2001; 47: 1579-96.
7. Klotzsch SG, McNamara JR. Triglyceride measurements: a review of methods and interferences. Clin Chem 1990; 36: 1605-1613.
8. Cole TG, Klotzsch SG, McNamara JR. Measurement of triglyceride concentration. In Handbook of Lipoprotein Testing, 2nd ed. Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. Washington, DC: AACC Press. 2000: 207-219.
9. Tonhazy NE, White NG, Umbreit WW. A rapid method for the estimation of the glutamic-aspartic transaminase in tissues and its application to radiation sickness. Arch Biochem 1950; 28: 36-42.
10. Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am J Clin Pathol 1957; 28: 56-63.
11. Murray RL. Alanine aminotransferase. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 895-898.
12. Wróblewski F, LaDue JS. Serum glutamic-pyruvic transaminase in cardiac and hepatic disease. Proc Soc Exp Biol Med 1956; 91: 569-571.
13. Bergmeyer HU, Horder M. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for alanine aminotransferase. J Clin Chem Clin Biochem 1980; 18: 521-534.
14. Karmen A. A note on the spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. J Clin Invest 1955; 34: 131-133.
15. Bergmeyer, HU, et al. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1977; 23: 887-899.
16. Bergmeyer HU, Hørder M, Moss DW. Provisional recommendations on IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 2. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. Clin Chem 1978; 24: 720-721.
17. Folin O, Wu H. A system of blood analysis. J Biol Chem 1919; 38: 81-110.
18. Somogyi M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. J Biol Chem 1937; 117: 771-776.
19. Nelson N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. J Biol Chem 1944; 153: 375-380.
20. Kaplan LA. Glucose. In: Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, 2nd ed. Kaplan LA, Pesce AJ, eds. St. Louis: The C.V. Mosby Company. 1989: 850-856.
21. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972; 18: 499-502.
22. Bachorik PS. Measurement of low-density-lipoprotein cholesterol. In Handbook of Lipoprotein Testing, 2nd ed. Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH, eds. Washington, DC: AACC Press. 2000: 245-263.
23. Schembri CT, et al. Centrifugation and capillarity integrated into a multiple analyte whole blood analyser. J Automatic Chem 1995; 17: 99-104. (journal's name changed in 2000 to J Automated Methods & Management in Chemistry)
24. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Clinical laboratory waste management; approved guideline–second edition. NCCLS Document GP5-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
25. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Procedure for the collection of diagnostic specimens by venipuncture; approved guideline–fourth edition. NCCLS Document H3-A4. Wayne, PA: NCCLS, 1998.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Procedures for the handling and processing of blood specimens; approved guideline–second edition. NCCLS Document H18-A2. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
27. Overfield CV, Savory J, Heintges MG. Glycolysis: a re-evaluation of the effect on blood glucose. Clin Chim Acta 1972; 39: 35-40.
28. Rehak NN, Chiang BT. Storage of whole blood: effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. Clin Chem 1988; 34: 2111-2114.
29. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Interference testing in clinical chemistry; approved guideline. NCCLS Document EP7-A. Wayne, PA: NCCLS, 2002.
30. Young, DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3rd ed. Washington, DC: AACC Press. 1990 and 1991 Supplement.
31. Kroll MH, et al. Standardization of lipoprotein reporting. Am J Clin Pathol 2000; 114: 696-702.
32. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Evaluation of Linearity of Quantitative Analytical methods; proposed guideline–second edition. NCCLS Document EP6-P2. Wayne, PA: NCCLS, 2001.

13. Bibliografía (continuación)

33. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices; approved guideline. NCCLS Document EP5-A. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
34. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Quality management for unit-use testing; proposed guideline. NCCLS Document EP18-P. Wayne, PA: NCCLS, 1999.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly, National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS). Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline–second edition. NCCLS Document EP9-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002.